

Литература:

1. Максимович Н. Е. Понятие о нитрооксидергической системе мозга. Роль нейрональных источников// Ж-л ГрГМУ.- 2003. - № 4. - С.7-11.
2. Максимович Н. Е. Понятие о нитрооксидергической системе мозга. Роль экстранейрональных источников// Журнал ГрГМУ.- 2004. - №1. - С.3-5.
3. Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Физиология и патофизиология эндотелия// Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция/ Под ред. Н. Н. Петрищева.- СПб.: Изд-во СПбГМУ. - 2003. - С. 4-38.
4. Максимович Н. Е. Возможности использования модуляторов образования оксида азота для коррекции воспалительного процесса в мозге крыс при его ишемии-реперфузии // Иммунология, аллергология, инфектология // 2003. - №3. - С. 14 - 17.
5. Maksimovich N. E. Tolerance of hypoxic hypoxia in rats with cerebral ischemia treated by NO-synthase modulators // Hypoxia medical. - 2004.-V.(1-2).-P.20- 23.
6. Maksimovich N., Zinchuk V., Maslakov D. The degree of oxidative stress in the rat brain during ischemia and reperfusion in conditions of correction of the L-arginine-NO system // Neuroscience and Behavioral Physiol. - 2006. - V. 36, № 4. – P. 373 - 378.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ЗАЩИТЕ И ПОВРЕЖДЕНИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Манухина Е.Б.¹, Дауни Г.Ф.², Маллет Р.Т.², Малышев И.Ю.³

ГУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Россия;

**Центр медицинских наук Университета Северного Техаса, США
Московский Государственный медико-стоматологический университет,
Россия*

Одной из наиболее опасных для жизни ситуаций является снижение поступления кислорода к жизненно важным органам. Интерес к эффектам гипоксии обусловлен, с одной стороны, необходимостью раскрыть патофизиологические механизмы кардиореспираторных заболеваний и с другой стороны – важностью понимания адаптивных изменений в организме в ответ на снижение поступления кислорода.

Протоколы, используемые при изучении адаптации к гипоксии, сильно варьируют – от 3-12 сравнительно коротких (2-10 мин) сеансов гипоксии, чередующихся с 2-20-мин нормоксии в один и тот же день до гипоксических воздействий, которые длятся от 1 до 12 часов в течение 2-90 дней подряд. Применяются также синусоидальные или осциллирующие циклы, состоящие в чередовании гипоксии/нормоксии по 30-90 сек в течение 7-8 часов 30-70 дней подряд. Именно режим гипоксического воздействия, по-видимому, определяет, что будет ответной реакцией – повышение резистентности организма или развитие патологии [1].

303855

Хорошо известно, что хроническая периодическая гипоксия, которая наблюдается, например, при синдроме апноэ во сне [2], может привести к развитию системной или легочной гипертензии, инфаркту миокарда и когнитивным расстройством. В то же время, дозированная адаптация к периодической гипобарической или нормобарической гипоксии обладает целым спектром прямых и перекрестных защитных эффектов и широко используется для лечения и предупреждения многих заболеваний, а также для повышения эффективности спортивных тренировок [3]. Поэтому так важно изучать участие ключевых физиологических процессов в ответе организма на гипоксию. Таким процессом является метаболизм оксида азота (NO) – одного из наиболее универсальных регуляторных факторов организма, для синтеза которого уровень кислорода в окружающей среде имеет первостепенное значение. NO вовлечен в многочисленные биологические функции, включая регуляцию сосудистого тонуса, иммунные реакции и процесс передачи нервного импульса. Снижение синтеза или биодоступности NO приводит к сосудистым нарушениям, сопровождающим гипертензию, атеросклероз и сахарный диабет. В то же время высокие концентрации NO чрезвычайно токсичны для клеток, митохондриальных ферментов и генетического аппарата [4].

В полном соответствии с широким разнообразием экспериментальных протоколов гипоксических воздействий, влияние таких воздействий на синтез NO также варьирует от почти полного ингибирования NOS до гиперпродукции NO.

При острой 3-минутной гипоксии и гипероксии у человека уровень NO в выдыхаемом воздухе остается без изменений до тех пор, пока напряжение кислорода не упадет ниже 10%. Концентрация NO в выдыхаемом воздухе снижается при уровне кислорода 5%, а при гипероксии возрастает [5].

На культурах клеток показано, что острая гипоксия угнетает активность всех трех изоформ NO-синтазы – индуцибельной – как в гладкомышечных сосудистых клетках, так и в макрофагах, эндотелиальной и нейрональной [5, 6]. Подавление синтеза NO при острой гипоксии происходит дозозависимо. При умеренной гипоксии поступление в клетки Ca^{2+} активирует NO-синтазу и предупреждает дефицит NO. При тяжелой гипоксии этот компенсаторный механизм не работает, и дефицит NO приводит к гипоксической вазоконстрикции [6].

Многократное повторение гипоксических эпизодов может приводить к стойкому повышению АД за счет активации симпатической и ренин-ангиотензиновой системы и угнетения активности NO-синтаз.

Типичным примером хронической периодической гипоксии является синдром апноэ во сне. Апноэ во сне характеризуется эпизодической обструкцией дыхательных путей во время сна. Нередко это происходит чаще, чем 60 раз в час, причем насыщение гемоглобина кислородом может па-

дать на 50%. При апноэ отмечается значительное снижение уровня стабильных метаболитов NO нитритов и нитратов. При успешном лечении апноэ этот показатель возвращается к норме [7].

Во время каждого эпизода апноэ АД повышается, что увеличивает напряжение сдвига на сосудистой стенке. Напряжение сдвига вначале стимулирует синтез NO в эндотелии и вызывает вазодилатацию. Однако хроническое воздействие на сосуды высоким давлением и напряжением сдвига в конечном счете может приводить к повреждению и дисфункции эндотелия, угнетению высвобождения NO и последующей вазоконстрикции [8].

Существуют и другие возможные факторы угнетения синтеза NO. Во-первых, эпизоды гипоксемии лишают NO-синтазы кислорода – необходимого ей ко-субстрата. Во-вторых, было показано, что у пациентов с апноэ происходит значительное повышение уровня эндогенных ингибиторов NO-синтазы [9]. Наконец, свободные радикалы, уровень которых повышен у пациентов с апноэ, также вносят вклад в снижение биодоступности NO [10]. Абсолютный или относительный дефицит NO в конечном счете способствует развитию гипертензии, атеросклероза, инфаркта миокарда и инсульта и тем самым вносит вклад в повышенную заболеваемость и смертность пациентов с апноэ [11].

Однако в то же время огромное количество исследований показывает, что дозированная адаптация к периодической гипоксии может эффективно стимулировать синтез NO. Это свойство адаптации к гипоксии лежит в основе ее многих защитных эффектов.

В наших экспериментах мы использовали гипобарическую гипоксию, которая создавалась у крыс в барокамере при разрежении воздуха, соответствующем 4000 м над уровнем моря, на протяжении 40 дней по 5 часов в день. Продукцию NO оценивали стандартным спектрофотометрическим методом по суммарной концентрации в плазме стабильных метаболитов NO - нитритов и нитратов. Адаптация к гипоксии вызвала постепенное увеличение концентрации этих соединений, причем к концу полного курса адаптации она увеличилась почти в два раза по сравнению с контролем [12].

Предварительная адаптация к гипоксии значительно увеличивала выживаемость крыс на симулированной высоте 11000 м. У адаптированных животных устойчивость к острой гипоксии достоверно возрастала. Ингибитор NO-синтазы L-NNA сам по себе не снижал устойчивость крыс к острой гипоксии, но отменял защитный эффект адаптации. Напротив, донор NO динитрозильный комплекс железа сам по себе повышал устойчивость к острой гипоксии, но не улучшал защитный эффект адаптации. Данные, полученные в этом эксперименте, подтверждают роль адаптивного увеличения продукции NO в защитных эффектах адаптации к гипоксии [13].

Защитные эффекты периодической гипоксии опосредованы целым рядом NO-зависимых механизмов (рис. 1) [14]. В их число входят, в первую очередь, увеличение поступления в клетку Ca^{2+} , индукция фактора транскрипции HIF-1, индукция белков теплового шока, регулирующих NOS, периодическая активация свободнорадикальных процессов, восстановление NO из нитритов и усиление поступления свободного железа, которое способствует образованию NO-содержащих комплексов, которые в дальнейшем служат дополнительным неферментативным источником NO.

Образовавшийся NO активирует ряд защитных механизмов, которые обеспечивают защитные эффекты NO. Это активация антиоксидантной защиты за счет индукции антиоксидантных ферментов, антиапоптотический и цитопротекторный эффект, обусловленные индукцией протекторных белков теплового шока, предупреждение Ca-перегрузки клеток, прямое вазодилататорное действие и стимулирование ангиогенеза, которое благоприятно в условиях патологического снижения плотности сосудистой сети, как, например, при гипертензии или болезни Альцгеймера.

В основе одного из главных механизмов усиления синтеза NO при адаптации к гипоксии лежит чередование гипоксии и реоксигенации. Гипоксия активирует так называемый hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) – фактор-регулятор транскрипции ряда генов, в том числе гена NOS. Этот фактор представляет собой гетеродимер, состоящий из двух компонентов – HIF-1 α и HIF-1 β . Экспрессия HIF-1 α дозозависимо возрастает при снижении концентрации O_2 ниже 20%, а HIF-1 β экспрессируется конституитивно. Распад HIF-1 происходит менее чем через 1 минуту после реоксигенации. Считается, что именно HIF-1 за счет такой быстрой динамики обеспечивает адаптацию к периодической гипоксии на уровне транскрипции генов, которая лежит в основе гипоксического стимулирования не только синтеза NO, но и эритропоэза, ангиогенеза и гликолиза. Благодаря активации HIF-1, по мере формирования адаптации в стенках сосудов нарастает экспрессия гена NO-синтазы, что делает адаптацию более надежной и долговременной [15].

Таким образом, адаптация к периодической гипоксии может эффективно повышать уровень NO в организме. Поскольку известно, что предварительное повышение уровня NO может ограничивать его последующую гиперпродукцию, мы предположили, что адаптация к гипоксии может предупреждать сердечно-сосудистые нарушения, связанные как с дефицитом, так и с избытком NO.

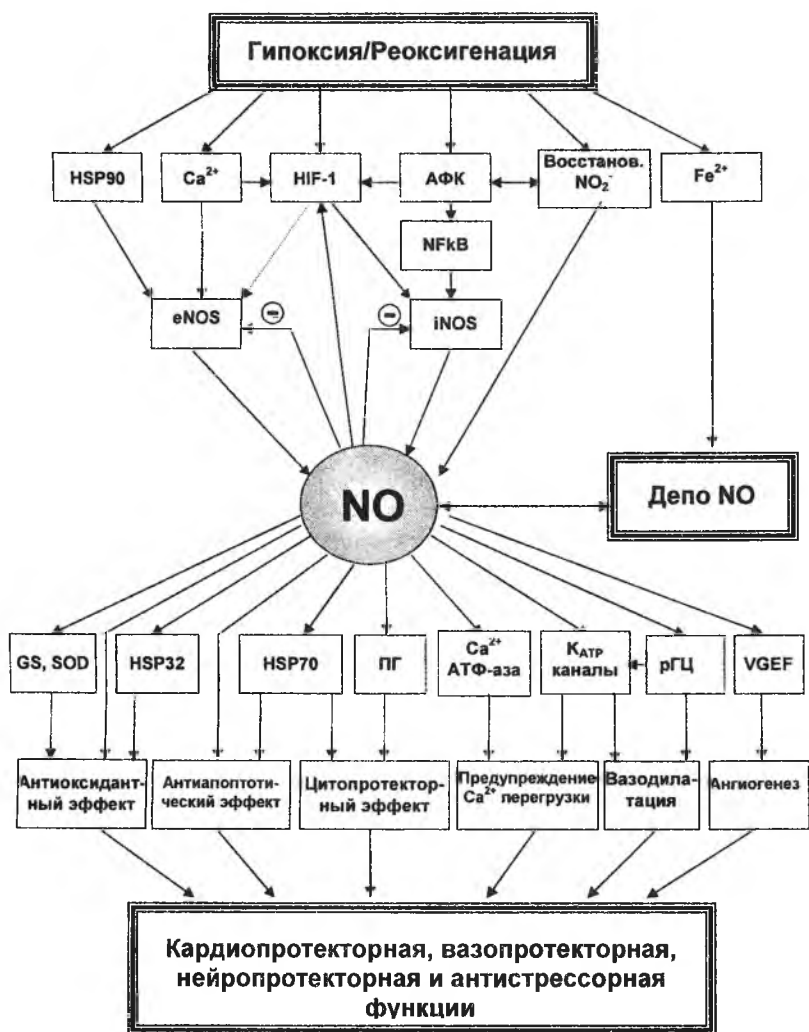


Рис. 1. NO-зависимые механизмы защитных эффектов периодической гипоксии. eNOS – эндотелиальная NO-синтаза, nNOS – нейрональная NO-синтаза, iNOS – индуцибельная NO-синтаза, SOD – супероксиддисмутаза, pГЦ – растворимая гуанилатциклаза, GS – глутатион, HSP – белки теплового шока; АФК – активные формы кислорода, ПГ – простагландины.

В качестве модели животных с дефицитом эндотелиального NO была использована линия спонтанно-гипертензивных крыс, предрасположенных к инсульту (SHRSP). Хорошо известно, что все формы гипертензии сопровождаются дисфункцией эндотелия, которая способствует повышению тонуса сосудов и еще большему повышению АД. В этих условиях абсолютный или относительный дефицит NO может быть связан с угнетением активности eNOS, окислением или связыванием NO свободными радикалами и/или ослаблением влияния NO на сосудистую гладкую мышцу [16]. Адаптация к периодической гипобарической гипоксии, начатая на стадии ранней гипертензии, нормализовала продукцию NO в организме, замедлила повышение АД у крыс и предупредила развитие дисфункции эндотелия [17].

Еще одним примером защитного действия периодической гипоксии против одновременно дефицита и гиперпродукции NO является недавно продемонстрированная адаптационная профилактика экспериментальной болезни Альцгеймера у крыс. Адаптация к периодической гипоксии в барокамере (4000 м над уровнем моря, 4 часа в день, 14 дней) предупреждала нейродегенеративное повреждение мозга и нарушения когнитивной функции, вызванные введением токсичного пептидного фрагмента β -амилоида. Этот защитный эффект был NO-зависимым, поскольку ингибитор NOS L-NNA отменял его [18]. Известно, что одним из факторов, усугубляющих нейродегенеративное поражение мозга, является нарушение метаболизма NO, которое проявляется, с одной стороны, в сниженной активности eNOS в эндотелии мозговых сосудов, а с другой стороны – в токсических эффектах избытка NO, продуцируемого nNOS в нейронах и iNOS в астроцитах и микроглии [19]. В этих условиях защитный эффект периодической гипоксии проявился одновременно в предупреждении дисфункции эндотелия сосудов мозга и ограничении повреждающего действия избытка NO за счет усиленного связывания его в комплексы [20].

В качестве модели гиперпродукции NO использовался острый экспериментальный инфаркт миокарда, вызванный перевязкой левой коронарной артерии у крыс. Через 3 часа после инфаркта АД упало с 110 до 73 мм рт. ст. Адаптация сама по себе не влияла на АД в контроле, но существенно ограничило острую гипотензию, вызванную инфарктом миокарда. Адаптация к гипоксии также эффективно ограничила чрезмерное усиление эндотелийзависимого расслабления сосудов, характерное для инфаркта [21].

По-видимому, стимулирование синтеза NO при адаптации к гипоксии играет важную роль в адаптационной защите сердечно-сосудистой системы. С одной стороны, повышенная продукция NO компенсирует абсолютный и относительный дефицит NO, вызванный активацией свободнорадикальных процессов и нарушением активности эндотелиальной NO-синтазы. С другой стороны, предварительное умеренное повышение уров-

ня NO ограничивает гиперпродукцию NO по механизму отрицательной обратной связи. Именно благодаря этому механизму адаптивное усиление синтеза NO оказывает благоприятное действие не только при его дефиците, но при гиперпродукции. Поэтому поиск путей направленного модулирования метаболизма NO представляет большой интерес в отношении повышения способности организма адаптироваться к гипоксии и повышать устойчивость к ней.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 07-04-00650) и National Heart, Lung and Blood Institute США (гранты R01 HL-064785 и R01 HL-071684).

Литература:

1. Neubauer J.A. Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia // J. Appl. Physiol. – 2001. – v. 90 – P. 1593-1599
2. Tahawi Z., Orolinova N., Joshua I.G. et al. Altered vascular reactivity in arterioles of chronic intermittent hypoxic rats. // J. Appl. Physiol. – 2001. – v. 90. – P. 2007-2013.
3. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. Москва, Hypoxia Medical LTD, 1993, 331 С.
4. Erusalimsky J.D., Moncada S. Nitric oxide and mitochondrial signaling: From physiology to pathophysiology. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2007. – v. 27. – P. 2524-2531.
5. Le Cras T.D., McMurty I.F. Nitric oxide production in the hypoxic lung. // Am. J. Physiol. – 2001. – v. 280. – P. L575-L582.
6. Abu-Soud H.M., Rousseau D.L., Stuehr D.J. Nitric oxide binding to the heme of neuronal nitric-oxide synthase links its activity to changes in oxygen tension. // J. Biol. Chem. – 1996. – v. 271. – P. 32515-32518.
7. Schulz R., Schmidt D., Blum A. et al. Decreased plasma levels of nitric oxide derivatives in obstructive sleep apnoea: response to CPAP therapy. // Thorax – 2000. – v. 55. – P. 1046-1051.
8. Ziegler T., Bouzourene K., Harrison V.J. et al. Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. // Arterioscler. Thromb. – 1998. – v. 18. – P. 686-692.
9. Carlson J., Hedner J., Pettersson A. Increased plasma concentration of ADMA, a naturally occurring nitric oxide synthesis inhibitor, in OSA patients. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1997. – v. 155. – P. A869.
10. Schulz R., Mahmoudi S., Hattar K. et al. Enhanced release of superoxide from polymorphonuclear neutrophils in obstructive sleep apnea: impact of CPAP therapy. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – v. 162. – P. 566-570.
11. Prabhakar N.R., Kumar G.K. Oxidative stress in the systemic and cellular responses to intermittent hypoxia. // Biol. Chem. – 2004. – v. 385 – P. 217-221
12. Manukhina E.B., Malyshev I.Yu., Smirin B.V. et al. Production and storage of nitric oxide in adaptation to hypoxia. // Nitric Oxide. – 1999. – v. 3. – P. 393-401.
13. Malyshev I.Yu., Zenina T.A., Golubeva L.Yu. et al. NO-dependent mechanisms of adaptation to hypoxia. // Nitric Oxide. – 1999. – v. 3. – P. 105-113.
14. Manukhina E.B., Downey H.F., Mallet R.T. Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. // Exper. Biol. Med. – 2006. – v. 231. – P. 343-365.
15. Postovit L.-M., Sullivan R., Adams M.A., Graham C.H. Nitric oxide signaling and cellular adaptations to changes in oxygenation. // Toxicology. – 2005. – v. 208. – P. 235-248.

16. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В., Лямина С.В., Машина С.Ю., Покидышев Д.А., Малышев И.Ю. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в развитии артериальной гипертензии. – Кардиология, 2002, № 11, с. 73-84.

17. Машина С.Ю., Смирин Б.В., Покидышев Д.А. и др. Роль предупреждения дефицита оксида азота в антигипертензивном эффекте адаптации к гипоксии. // Известия РАН. Серия биологическая. – 2001. – № 5. – С. 579-587.

18. Манухина Е.Б., Виегант Ф., Торшин В.И. и др. Перспективы применения немедикаментозных подходов при болезни Альцгеймера. // Известия РАН. Серия Биологическая. – 2004. – № 4. – С. 382-395.

19. Torre de la J.C. Vascular basis of Alzheimer's pathogenesis. // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2002. – v. 977. – P. 196-215.

20. Машина С.Ю., Александрин В.В., Горячева А.В. и др. Адаптация к гипоксии предупреждает нарушения мозгового кровообращения при нейродегенеративном повреждении: роль оксида азота. // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 2006. – № 8. – С. 132-135.

21. Manukhina E.B., Mashina S.Yu., Smirin B.V. et al. Role of nitric oxide in adaptation to hypoxia and adaptive defense. // Physiol. Res. – 2000. – v. 49. – P. 89-97.

ПОЧЕМУ НАМ ИНТЕРЕСЕН ЭНДОТЕЛИЙ?

Родионов Ю.Я., Шебеко В.И.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет», Беларусь*

В 1838 году Ф. Генле предположил, что интима кровеносных сосудов состоит из специальных клеток. Через 27 лет В. Гис выделил эти клетки в отдельную гистологическую структуру и назвал их «эндотелием» или «внутренним сосочком». Гис относил эндотелий к эпителию мезодермального генеза. В 1874 году Л. Ранвье предложил называть «эндотелием» любой плоский однослойный эпителий независимо от его происхождения. В 1881 году Э. фон Реклингхаузен доказал подлинное существование эндотелиальной выстилки внутренней поверхности сосудистого ложа, а с 30-х годов XX века условились называть *эндотелием* только внутреннюю выстилку полостей сердца, кровеносных и лимфатических сосудов.

Эндотелий стал интересен нам с 1965 года, когда впервые была выдвинута гипотеза о пульсирующем характере транскapиллярного обмена, и о способности эндотелия реагировать на пульсирующие колебания кровотока изменениями своей проницаемости, синхронизированными с биениями сердца (Родионов Ю.Я., 1965). Далее, теоретически и экспериментально доказано существование ранее не известного явления функциональных и патофизиологических взаимосвязей ренин-ангиотензиновой системы с системами свертывания крови и фибринолиза, с динамическими свойст-